

Cara uji kimia - Bagian 4: Penentuan kadar protein dengan metode total nitrogen pada produk perikanan



Daftar isi

Daftar isi	i
Prakata	ii
1 Ruang lingkup	1
2 Istilah dan definisi	1
3 Prinsip.....	1
4 Peralatan	1
5 Pereaksi	1
6 Preparasi contoh	2
7 Prosedur	2
8 Perhitungan	3
9 Pelaporan	3
10 Keamanan dan keselamatan kerja (K3)	3
Lampiran A (normatif) Cara pembuatan pereaksi	4
Lampiran B (normatif) Konversi kadar N menjadi kadar protein.....	5
Bibliografi	6



Prakata

Dalam rangka memberikan jaminan mutu dan keamanan pangan terhadap komoditas yang akan dipasarkan di dalam dan luar negeri, maka perlu disusun suatu Standar Nasional Indonesia (SNI) tentang metode uji yang dapat memenuhi jaminan tersebut.

SNI 01-2354.4-2006 ini merupakan revisi dan mengganti SNI 01-2365-1991, *Standar metode pengujian Produk perikanan penentuan kadar protein (total nitrogen)* yang telah dirumuskan oleh Panitia Teknis Perikanan melalui rapat-rapat teknis, rapat prakonsensus dan rapat konsensus nasional pada tanggal 18 Maret 2005 di Jakarta. Dihadiri oleh wakil-wakil produsen, konsumen, asosiasi, lembaga penelitian, perguruan tinggi serta instansi terkait sebagai upaya untuk meningkatkan jaminan mutu dan keamanan pangan.

Berkaitan dengan penyusunan Standar Nasional Indonesia ini, maka aturan-aturan yang dijadikan dasar atau pedoman adalah:

- 1 Peraturan Pemerintah No. 69 tahun 1999 tentang Label dan Iklan Pangan.
- 2 Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No. KEP. 01/MEN/2002 tentang Sistem Manajemen Mutu Terpadu Hasil Perikanan.
- 3 Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No. KEP. 06/MEN/2002 tentang Persyaratan dan Tata Cara Pemeriksaan Mutu Hasil Perikanan yang Masuk ke Wilayah Republik Indonesia.
- 4 Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No. KEP. 21/MEN/2004 tentang Sistem Pengawasan dan Pengendalian Mutu Hasil Perikanan untuk Pasar Uni Eropa.



Cara uji kimia - Bagian 4: Penentuan kadar protein dengan metode total nitrogen pada produk perikanan

1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan cara uji kadar protein dengan metode total nitrogen. Standar ini digunakan untuk menentukan kadar protein pada produk perikanan.

2 Istilah dan definisi

2.1

titrasi

metode analisa kuantitatif yang didasarkan pada reaksi penetralan asam basa

2.2

stokiometri

perhitungan berdasarkan kesetimbangan reaksi kimia

2.3

produk perikanan

ikan termasuk biota perairan lainnya yang ditangani dan/atau diolah untuk dijadikan produk akhir yang berupa ikan segar, ikan beku dan olahan lainnya yang digunakan untuk konsumsi manusia

3 Prinsip

Senyawa nitrogen dilepaskan dari jaringan daging melalui destruksi menggunakan asam sulfat pekat dengan bantuan panas pada suhu 410°C selama ± 2 jam (sampai diperoleh larutan jernih) di mana senyawa nitrogen terikat oleh sulfat membentuk ammonium sulfat. Selanjutnya ammonium sulfat diubah menjadi garam basa NH_4OH dengan penambahan NaOH . NH_4OH didestilasi menggunakan panas uap untuk memisahkan senyawa amoniak. Amoniak ditangkap oleh asam borat membentuk ammonium borat dan selanjutnya dilakukan titrasi dengan asam klorida. Penetapan jumlah nitrogen dihitung secara stokiometri dan kadar protein diperoleh dengan mengalikan jumlah nitrogen dengan faktor konversi.

4 Peralatan

- Timbangan analitis kepekaan 0,0001 g;
- Alat destruksi *kjeldahl* ukuran 250 ml;
- Alat destilasi uap;
- Peralatan gelas labu destruksi 250 ml, labu takar, corong gelas, buret 50 ml pipet volumetrik 25 ml, erlenmeyer 250 ml, gelas ukur 50 ml, gelas piala 50 ml, pipet tetes dan batang pengaduk.
- Saringan no. 20 ukuran *mesh* 0,0331 inci, diameter kawat 0,355 mm;

5 Pereaksi

- Tablet katalis mengandung 3,5 g K_2SO_4 dan 0,175 g HgO atau yang setara (tercantum dalam lampiran A.1).

- b) Kertas timbang bebas N (Whatman 541)
- c) Batu didih
- d) Larutan asam borat 4%.
- e) Larutkan 4 g H_3BO_3 dalam air tambahkan 0,7 ml larutan indikator *methyl red* 0,1 % dalam etanol dan 1 ml larutan indikator *bromcresol green* 0,1 % dalam etanol dan encerkan sampai 100 ml.
- f) Asam sulfat (H_2SO_4) pekat p.a
- g) Hidrogen peroksida (H_2O_2) 30-35% p.a
- h) Larutan natrium hidroksida-natrium thiosulfat. Larutkan 2000 g NaOH dan 125 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ dalam air dan encerkan menjadi 5 liter (kira-kira penggunaan per analisa 50 ml)
- i) Larutan standar asam klorida 0,2 N (lihat Lampiran A.2)

6 Preparasi contoh

6.1 Tepung ikan

Lumatkan contoh dengan blender dan sejenisnya hingga partikelnya dapat melewati saringan 20 *mesh*. Masukkan contoh dalam wadah plastik atau gelas yang bersih dan bertutup.

6.2 Produk perikanan selain tepung ikan

Lumatkan contoh hingga homogen dan masukkan dalam wadah plastik atau gelas yang bersih dan bertutup. Jika contoh tidak langsung diuji, simpan contoh dalam *refrigerator* atau *freezer* sampai saatnya untuk dianalisa. Kondisikan contoh pada suhu ruang dan pastikan contoh masih tetap homogen sebelum ditimbang, jika terjadi pemisahan antara cairan dan contoh maka diaduk ulang dengan blender sebelum dilakukan analisa.

7 Prosedur

- a) Timbang seksama kira-kira 2 g homogenat contoh pada kertas timbang, lipat-lipat dan masukan ke dalam labu destruksi.
- b) Tambahkan 2 buah tablet katalis serta beberapa butir batu didih.
- c) Tambahkan 15 ml H_2SO_4 pekat (95%-97%) dan 3 ml H_2O_2 secara perlahan-lahan dan diamkan 10 menit dalam ruang asam.
- d) Destruksi pada suhu 410°C selama ± 2 jam atau sampai larutan jernih, diamkan hingga mencapai suhu kamar dan tambahkan 50-75 ml *aquades*.
- e) Siapkan erlenmeyer berisi 25 ml larutan H_3BO_3 4% yang mengandung indikator sebagai penampung destilat.
- f) Pasang labu yang berisi hasil destruksi pada rangkaian alat destilasi uap.
- g) Tambahkan 50-75 ml larutan natrium hidroksida-thiosulfat
- h) Lakukan destilasi dan tampung destilat dalam erlenmeyer tersebut (6.5) hingga volume mencapai minimal 150 ml (hasil destilat akan berubah menjadi kuning).
- i) Titrasi hasil destilat dengan HCl 0,2 N yang sudah dibakukan sampai warna berubah dari hijau menjadi abu-abu netral (*natural gray*).
- j) Lakukan pengerjaan blanko seperti tahapan contoh.
- k) Lakukan pengujian contoh minimal *duplo* (dua kali).

CATATAN Sebelum digunakan cuci alat destilasi dengan cara melakukan destilasi *aquades* seperti prosedur. Apabila destilat yang tertampung mengubah warna garam borat (merah *violet* → hijau) maka lakukan pencucian/destilasi ulang sampai hasil destilat yang tertampung tidak berubah warna (merah *violet*).

8 Perhitungan

$$\text{Kadar protein (\%)} = \frac{(V_A - V_B) \text{ HCl} \times N \text{ HCl} \times 14,007 \times 6,25 \times 100\%}{W \times 1000}$$

dengan :

V_A : ml HCl untuk titrasi contoh

V_B : ml HCl untuk titrasi blangko

N : Normalitas HCl standar yang digunakan.

14,007 : Berat atom nitrogen.

6,25 : Faktor konversi protein untuk ikan

W : Berat contoh (g)

Kadar protein dinyatakan dalam satuan g/100 g contoh (%).

9 Pelaporan

a) Jika hasil perhitungan diperoleh angka desimal kurang dari 5 (lima) maka pembulatan turun, tetapi jika lebih dari 5 (lima) pembulatan naik.

CONTOH :

14,454 dibulatkan menjadi 14,45

14,466 dibulatkan menjadi 14,47

b) Jika hasil perhitungan diperoleh angka desimal 5 (lima) yang akan dibulatkan dari angka genap yang ada di depannya, maka angka lima tersebut menjadi hilang, tetapi jika angka di depannya ganjil maka pembulatan akan naik.

CONTOH :

14,765 dibulatkan menjadi 14,76

14,475 dibulatkan menjadi 14,48

10 Keamanan dan keselamatan kerja (K3)

Untuk menjaga keamanan dan keselamatan kerja selama melakukan analisis penentuan kadar protein perlu diperhatikan hal-hal sebagai berikut:

- Cuci tangan sebelum dan sesudah melakukan analisa.
- Gunakan jas lab selama bekerja di laboratorium.
- Tempatkan unit alat destruksi dalam lemari asam.
- Saat menambahkan asam sulfat ke dalam labu destruksi dilakukan pada lemari asam, gunakan masker serta dispenser.
- Saat melakukan destruksi pastikan air pendingin dan blower dapat digunakan selama proses berlangsung.

Lampiran A (normatif)

Cara pembuatan pereaksi

A.1 Pengganti tablet katalis: terdiri dari 7,0 g K_2SO_4 dan 0,5 g $Cu SO_4$ (0,83 g $Cu SO_4 \cdot 5 H_2O$)

A.2 Pembuatan larutan HCl

a. Larutan asam klorida (HCl 0,2 N) standar

Pembuatan larutan HCl 0,2 N 1 liter . Pipet 16 ml HCl 37 % (pekat) dilarutkan dalam 1 lt dengan H_2O .

b. Standarisasi larutan HCl 0,2 N dengan cara sebagai berikut:

- Buat larutan $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ 0,2 N sebanyak 100 ml. (BM $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O = 381,37$) Timbang 3,8137 g $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$, larutkan dalam 100 ml H_2O mendidih. Normalitas larutan $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ dihitung sebagai berikut:

$$N = \frac{3,8137}{381,37} \times \frac{1000}{100} \times 2$$

$$= 0,2000 \text{ N}$$

- Cara pembakuan dilakukan sebagai berikut:

Pipet larutan $Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$ 0,2 N volume tertentu (tercatat), titrasi dengan larutan HCl 0,2 N. Hitung normalitas larutan HCl dengan rumus $V_1.N_1 = V_2.N_2$.

A.3 Pembuatan indikator

- a Larutan indikator *methyl red* 0,1%; Timbang 0,1 g *methyl red*, larutkan dalam 100 ml *etanol*.
- b Larutan indikator *bromcresol green* 0.1%. Timbang 0,1 g *bromcresol green*, larutkan dalam *etanol* 100 ml.

Lampiran B
(normatif)

Konversi kadar N menjadi kadar protein

Tabel B.1 Konversi kadar N menjadi kadar protein

No	Bahan	Faktor konversi
1	Ikan, makanan ternak, ragi, buah-buahan, malt, anggur, teh.	6,25
2	Beras	5,95
3	Roti, gandum, makaroni, bakmi	5,70
4	Kacang tanah	5,46
5	Kedelai	5,75
6	Kenari	5,18
7	Susu kental manis	6,38



Bibliografi

Association of Official Analytical Chemistry (AOAC), 2000. Official Methods of Analysis, 17th.

Association of Official Analytical Chemistry, 2000. Official Methods of Analysis, 17th edition, Chapter 39.1.19.

Official Chemical Method, 1979. Fish Inspection Branch Fisheries And Ocean Canada.











BADAN STANDARDISASI NASIONAL - BSN
Gedung Manggala Wanabakti Blok IV Lt. 3-4
Jl. Jend. Gatot Subroto, Senayan Jakarta 10270
Telp: 021- 574 7043; Faks: 021- 5747045; e-mail : bsn@bsn.or.id